



Hållning av kastrerade och icke kastrerade försöksmöss i par som en lösning på aggressivt beteende

Housing of castrated and intact laboratory mice in pairs as a solution for aggressive behaviour

Emil Samuelsson

Skara 2014

Etologi och djurskyddsprogrammet

Studentarbete
Sveriges lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa

Nr. 599

Student report
Swedish University of Agricultural Sciences
Department of Animal Environment and Health

No. 599

ISSN 1652-280X



Hållning av kastrerade och icke kastrerade försöksmöss i par som en lösning på aggressivt beteende

*Housing of castrated and intact laboratory mice in pairs as a
solution for aggressive behaviour*

Emil Samuelsson

Studentarbete 599, Skara 2014

**G2E, 15 hp, Etologi och djurskyddsprogrammet, självständigt arbete i biologi,
kurskod EX0520**

Handledare: Elin Weber, SLU, Inst för husdjurens miljö och hälsa, Box 234,
Gråbrödragatan 19, 532 23 SKARA

Examinator: Anette Wichman, SLU, Inst för husdjurens miljö och hälsa, Box 234,
Gråbrödragatan 19, 532 23 SKARA

Nyckelord: Försöksmöss, aggression, kastration

Serie: Studentarbete/Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens miljö och
hälsa, nr. 599, ISSN 1652-280X

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för husdjurens miljö och hälsa

Box 234, 532 23 SKARA

E-post: hmh@slu.se, **Hemsida:** www.slu.se/husdjurmiljohalsa

I denna serie publiceras olika typer av studentarbeten, bl.a. examensarbeten, vanligtvis omfattande 7,5-30 hp. Studentarbeten ingår som en obligatorisk del i olika program och syftar till att under handledning ge den studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Arbetenas innehåll, resultat och slutsatser bör således bedömas mot denna bakgrund.

Innehåll

Innehåll	3
Abstract.....	4
1. Introduktion	5
2. Material och metod.....	7
2.1 Djur och hållning	7
2.2. Testprocedur	7
2.3 Bearbetning av data	8
3. Resultat	8
3.1 Fortlöpande kontroll	8
3.2 Beteendeobservationer	9
4. Diskussion	10
4.1 Fortlöpande kontroll	10
4.2 Beteendeobservationer	11
4.3 Förbättringar i studien	12
5. Slutsats.....	13
6. Populärvetenskaplig sammanfattning.....	14
7. Tack	15
8. Referenser.....	15
Bilaga 1.....	18
Etogram	18

Abstract

Aggression between laboratory mice is a common problem and can result in welfare issues such as mice hurting or killing each other and also stress. Swedish laws and regulations clearly states that mice must be housed with a companion due to their natural social structure. Many studies have investigated the effect off enrichment, group size, cage size and other potential changes in in their environment on the occurrence of aggression. Even with these changes aggression can exist and therefore a new solution was tested in this paper. The proposed solution was to house an intact mouse with a castrated one and thus fulfill laws and regulations while still maintaining the physiology of one of the mice for the purpose of medical experiments.

The mice used in the study was transgene males, C57BL/6 males, C57BL/6 femlaes och Balb C females. They where housed in makrolon 3 elevated cages with 6 cm aspen sawdust substrate, unbleached autoclaved paper jams as nesting material, nestlets, one paper pulp house, two aspen gnaw sticks and water and food (R3, manufacturer Lactamin) was provided *ad libitum*. The animals who was to be castrated was so at the age of 4 weeks. Depending on the particular mouse the study started at the age of 5 or 6 weeks with them being paired one intact mouse with one castrated. 6 combinations were formed with differentiating strain and sex with 5 pair in each combination.

Evaluation of aggression was performed with two methods, observational studies and continous monitoring of injuries and aggressive behaviour with imminent risk of injuries. Observational studies was carried out at the point of pair formation as well as cage changing for 15 minutes where the chosen behaviours were recorded by an observer. If aggressive behaviour were to intense and was threatening to lead to injuries the pairs were separated. The continous monitoring was carried out at least once a day by a animal technician or veterinary and it's function was to abort pairs in which injuries was present or if aggressive behaviour took place which had a high risk of resulting in injuries.

We found that pairs with an intact male and a castrated male were unfitting because all of these pairs was separated. In contrast only 10 % of groups with an intact male and a castrated female were separated. No strong relation between strain and abortion was found. Observational studies showed that a much higher grade of the chosen behaviors were carried out at pair formation than cage changing. The only behaviour with a explainable cause was mating attemps since it was only carried out by the transgene males we used in this study.

The conclusion of this study is that pair housing with an intact male and a castrated male is not fitting for maintaining the social need of mice whilst not altering the physiology of one mouse due to high prescence of aggression while pair housing with an intact male and a castrated female can be.

1. Introduktion

Aggression mellan hanmöss (*Mus musculus*) i en laboratoriemiljö är enligt studier ett vanligt beteende och kan leda till att de attackerar och skadar varandra (Van Oortmerssen, 1971; Bisazza, 1981). Förutom det uppenbara välfärdsproblemet med att de attackerar och potentiellt dödar varandra så kan aggression ofta leda till stress hos djuren vilket kan försämra deras immunförsvar (Fano *et al.*, 2001).

Den snabbaste och enklaste lösningen på detta problem är att istället för att hålla mössen i grupp att hålla dem individuellt. 15 kap. 13 § Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (SJVFS 2012:26) om försöksdjur, saknr L 150, säger emellertid att djur som inte är naturligt solitära ska hållas i stabila grupper med socialt kompatibla individer. Det finns däremot ett tillägg som fastställer att om man inte kan hitta kompatibla individer kan djuret hållas individuellt men då ska det ha tillgång till extra berikning och tiden som djuret är individuellt ska minimeras i högsta möjliga mån. Enligt 15 § i samma kapitel får även en djurförsöksetisk nämnd ge undantag från 13 § men även här måste tiden begränsas i största möjliga mån.

Möss är sociala djur och lever i kompatibla grupper som ofta är baserade på familjer med en ensam dominant hane (Baumans, 2010; Latham & Mason, 2004). När förutsättningarna är så att möss har tillgång till stora ytor och tillgången på föda är tillräcklig formar populationerna, som består av flera familjegrupper, territorium där vardera familjegrupper ockuperar ett territorium (Latham & Mason, 2004). Lever de däremot under mer begränsade förhållanden så som i en laboratoriemiljö så formar de oftast en hierarki baserad på dominans (Latham & Mason, 2004). Möss är alltså i allra högsta grad sociala djur och då måste de lagar och regler som gäller för icke solitära djur måste appliceras på dem.

Att separera möss och hålla dem individuellt strider alltså mot Jordbruksverkets föreskrifter förutom i speciella fall då man anser att det är nödvändigt. Utöver detta stärker många vetenskapliga artiklar faktumet att man ska undvika att inhysa möss individuellt. Det finns flertal studier som visar att hanmöss dels föredrar att hållas med en artfrände (Van Loo *et al.*, 2001, Van Loo *et al.*, 2004) samt att individuell inhysning kan leda till större stresskänslighet (Bartolomucci *et al.*, 2002) och ett större påslag av stressrelaterade hormoner (Goldsmith *et al.*, 1978). Det finns däremot flera typer av individuell hållning. En form är att musen enbart hålls individuellt men fortfarande kan uppfatta och kommunicera med andra möss genom syn, hörsel och lukt. En annan form är att möss hålls isolerat vilket innebär att den inte kan uppfatta eller kommunicera med andra möss på något vis. Det visades av Goldsmith *et al.* (1978) att isolerade hanmöss hade större påslag av stressrelaterade hormoner än möss som hölls individuellt.

Det finns flera andra studier som även talar för att en individuell hållning inte nödvändigtvis behöver betyda en dålig djurvälstånd och till och med kan vara att föredra framför grupphållning. I en studie av Rettich *et al.* (2006) fann man att en kastrerad hanmus som hölls i samma bur med en icke kastrerad hanmus men separerades med avskiljare så de såg, hörde och kunde känna lukten av varandra hade en signifikant högre nivå av hjärtfrekvens, kroppstemperatur och aktivitet samt en signifikant lägre kroppsvikt än då de hölls individuellt. Samma samband fanns inte då den andra musen var en hona. Hunt och Hambly (2006) kom fram till att individuellt hållna hanmöss inte är mer stressade än grupphållna hanmöss. Karolewicz och Paul (2001) studerade hanmöss som antingen huserats individuellt eller i grupp, och undersökte skillnader i förmågan att genomföra ett påtvingat simtest.

De grupphållna mössen visade höga nivåer av orörlighet till skillnad från de individuellt hållna mössen. När de även prövade att behandla mössen med antidepressiva medel så förbättrades de grupphållna mössens förmåga markant vilket det inte gjordes hos de individuellt hållna mössen. Detta skulle kunna vara en indikation på att grupphållna möss utvecklar depressionsliknande symptom.

Fördelar och nackdelar finns alltså hos individuell hållning och grupphållning. Med grupphållning är det en överhängande risk för fysisk skada och för båda typerna är psykologisk skada även en risk. Grupphållning borde vara den mest fördelaktiga med hänsyn till att möss är grupplevande djur samtidigt som individuell hållning borde vara ogynnsam. I naturliga grupper har möss dock mycket större yta att tillgå och man skulle kunna tänka sig att det inte är själva grupphållningen som är orsaken till problemet utan den begränsade miljö de lever i. Vad det än beror på kvarstår faktumet att möss enligt jordbruksverkets föreskrifter måste hållas i grupp.

Eftersom typen av hållning inte ger en direkt lösning får man arbeta med andra metoder för att minska aggressionen mellan möss. Sådana metoder skulle bland annat kunna vara berikning, gruppstorlek, burstorlek och skötselrutiner. Van Loo *et al.* (2002) undersökte i en studie om berikning i form av hus och bomaterial minskade aggressionen hos hanmöss. De fann att förekomsten av hus ökade aggressionen medans förekomsten av bomaterial minskade den. I studier som undersökte effekten av burstorlek har man funnit att en större bur inte leder till någon förändring eller kan till och med leda till mer aggression (Van Loo *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2005). Det har även föreslagits i flera studier att hur skötselrutiner, så som vid burbyte, genomförs kan minska aggressionen mellan hanmöss (Gray & Hurst, 1995; Van Loo *et al.*, 2000). Det är känt att aggression mellan hanmöss är som allra högst då djuren störs på något sätt så som vid burbyte (Gray & Hurst, 1995; Van Loo *et al.*, 2000). Enligt Gray & Hurst (1995) ökade aggression direkt efter burbyte och var ihållande i 15 minuter. Vid burbyten finns det vissa åtgärder som kan minska eller öka aggression så som att överföring av spån ökar aggression efter burbyte medans överföring av bomaterial minskar aggression (Van Loo *et al.*, 2000). Att inte byta ut buren utan att bara byta substratet i buren kan också leda till en ökad aggression (Gray & Hurst, 1995).

Mycket underlag finns och mycket studier har gjorts för att åtgärda problemet men trots det är aggression mellan möss ett problem som förekommer i flera laboratorier bland annat hos Astrazeneca i Mölndal. Om man vill lösa problemet måste ett annat tillvägagångssätt appliceras. Förslaget Astrazeneca har och som de vill få undersökt är att para ihop en icke kastrerad mus med en kastrerad mus. I fall där möss har slagits, trots att man förbättrat berikning, har man med hjälp av kastration eliminerat slagsmål mellan möss (Lofgren *et al.*, 2012). Problemet med kastration är att på grund av förändringar i de fysiologiska förutsättningarna för musen kan de påverka resultatet i forskningen som man genomför och därför kan forskare vilja ha icke kastrerade möss. På grund av detta uppkom förslaget att hålla kastrerade möss med icke kastrerade möss för att tillgodose de icke kastrerade mössens behov av social kontakt medans man förhoppningsvis förhindrar att det förekommer aggression och slagsmål mellan mössen.

Syftet med denna studie är därmed att avgöra om hållning av en icke kastrerad hanmus med en kastrerad han- eller honmus ger låg grad eller avsaknad av aggressiva beteenden. Det kommer göras med beteendeobservationer där fokus kommer vara aggressiva beteenden med socialt positiva beteenden som ett tillskott. Aggressivitet kommer även bedömas med hjälp av fortlöpande kontroller på mössens hälsa. Jämförelser kommer att göras med hänsyn till dels olika stammar av möss men även mellan olika kön.

2. Material och metod

2.1 Djur och hållning

Studien utfördes från 24 april till den 7 maj på AstraZenecas djuranläggning i Mölndal, Sverige. Mössen som användes i studien var transgena hanar, C57BL/6 hanar, C57BL/6 honor och Balb C honor. De transgena mössen avlades upp inom anläggningen och övriga djur köptes in och anlände vid 5 veckors ålder. På djur som skulle kastreras utfördes ingreppet vid 4 veckors ålder. Innan studien startade hölls de möss som avlats upp inom anläggningen i samkönade syskongrupper. De djur som köpts in hölls i de grupper som de transporterats i till starten på studien. De inköpta djuren var 5 veckor vid studiestart samtidigt som de egenavlade djuren var 6 veckor. Djuren hölls i burar av sorten makrolon 3 förhöjd. Bottenmaterialet bestod av 6 cm aspspån. Djuren fick tillgång till bomaterial som var oblekt autoklaverat papperstrassel, nestlets, ett hus av pappersmassa och 2 stycken gnagpinnar av asp. De hade obegränsad tillgång till vatten och mat av sorten R3, tillverkare Lactamin. Temperaturen i djurrummet var 20-22 grader och ljuscykeln var 12 timmar ljus och 12 timmar mörker. Djuren inhystes i par som bestod av 6 olika kombinationer i avseende på stam och kön med 5 par i varje kombination (Tabell 1.).

Tabell 1. Uppdelning av kombination och parer som användes för att studera aggressivitet

Komb.	Par	Stam icke kastrat	Kön icke kastrat	Stam kastrat	Kön kastrat
1	1-5	Transgen	Hane	C57BL/6	Hona
2	6-10	Transgen	Hane	Transgen	Hane
3	11-15	Transgen	Hane	Balb C	Hona
4	16-20	C57BL/6	Hane	Transgen	Hane
5	21-22	C57BL/6	Hane	Balb C	Hona
6	26-30	C57BL/6	Hane	C57BL/6	Hona

2.2. Testprocedur

För att utvärdera huruvida det förekom någon aggression mellan mössen genomfördes fortlöpande kontroller av djurens hälsotillstånd och risk mot deras hälsotillstånd samt beteendeobservationer. I den fortlöpande kontrollen av djurens hälsotillstånd var målet att undersöka utifall något av djuren hade åsamkats synlig skada av aggressiva beteenden som inte direkt hade iakttagits av personal. I denna kontroll ingick även att par som utanför beteendeobservationerna uppvisade ihållande aggression som riskerade att sluta i fysiska skador för mössen avbröts. Denna kontroll genomfördes av djurtekniker och/eller veterinärer minst en gång per dag men var också fortgående konstant under hela studien om djurtekniker eller veterinär observerade skador eller aggressiva beteenden vid annan tidpunkt. Bedömning av huruvida skadorna var allvarliga och om det var nödvändigt att avbryta paren för att inte riskera djurens välfärd gjordes enligt praxis för vad som är normalt för detta laboratorium.

Utöver den fortlöpande kontrollen utfördes det vid hopsättning av paren och vid burbyte beteendeobservationer. Valet att genomföra observationerna vid dessa tillfällen berodde på att det är då aggressiviteten är vanligast (Gray & Hurst, 1995; Van Loo *et al.*, 2000). Mössen levererades under olika tillfällen och därför genomfördes 3 observationstillfällen. Under det första tillfället studerades hopsättning av par 1-15. Det andra tillfället innebar burbyte för par 1-15 samt hopsättning för par 16-30. Det tredje tillfället innebar burbyte för par 1-30.

Hopsättningen gick till så att mössen togs från sina acklimatiseringsburar och placerades i en helt ny bur med ny inredning. Burbytet gick till så att djuren flyttades över samtidigt från den gamla buren till en ny bur med ny inredning. Det enda som följde med från den gamla buren var bomaterial.

Hopsättning och burbyte följdes av en 15 minuter lång beteendeobservation med 1-0 registrering och 1 minuters intervaller. Varje observatör observerade 2-3 burar samtidigt. Antalet burar som observerades åt gången avgjordes av erfarenhet av möss och deras beteende. De beteenden som noterades under dessa 15 minuter var aggressiva beteenden, hotfulla beteenden, goda sociala beteenden och övriga beteenden. De beteenden som föll under aggressiva beteenden var attackerande och jagande och de hotfulla var då musen stod i en offensiv kroppshållning och när den svängde med svansen. Goda sociala beteenden var att mössen antingen låg eller sov i direkt kontakt med varandra, luktade på varandra och/eller om de putsade varandra. Övriga beteenden var parningsförsök. För definitioner se etogram i bilaga 1. Även vid beteendeobservationerna avbröts paren utifall det var ihållande aggression som riskerade något av djurens välfärd.

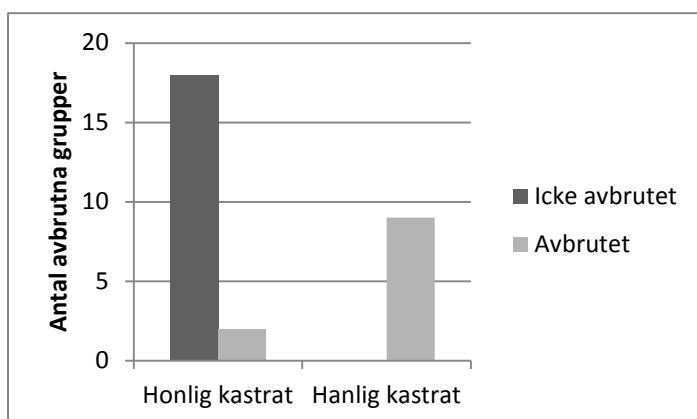
2.3 Bearbetning av data

Data bearbetades och omstrukturerades i Excel. Eftersom par 1-15 observerades vid två burbyten medans par 16-30 bara gjorde det vid ett räknades ett medelvärde ut över de två burbytena för par 1-15.

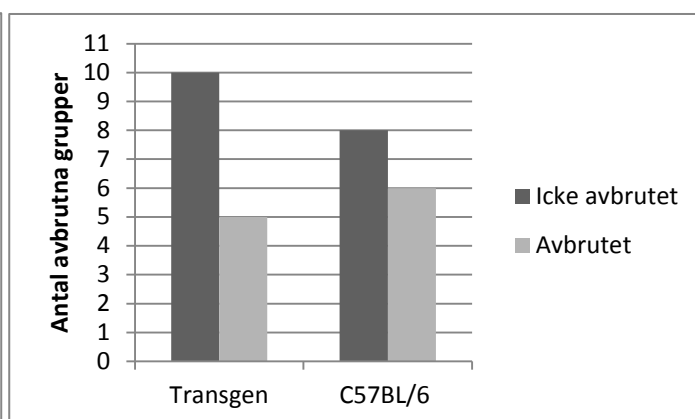
3. Resultat

3.1 Fortlöpande kontroll

Under studien avbröts 11 av 29 par (38 %). De par som avbröts var par 6-10, 16-19 och 22-23. Tillfället för avbrottet sträckte sig från under observationerna till som mest 6 timmar efter hopsättning. Anledningen till avbrottet var i alla fall aggressiva beteenden som riskerade djurvälståndet. Par 20 som var planerad att ingå i studien startades inte på grund av en bedömning att risken var för stor att kraftig och ihållande aggression skulle uppstå. Av de par som avbröts var majoriteten par där den kastrerade musen var en hane (Figur 1). Av de par med honliga kastrater var det 10 % som avbröts och av de par med hanliga kastrater var det 100 % som avbröts. Fördelas paren över vilken stam det var på den okastrerade musen så avbröts par transgener att 33 % av gångerna och 43 % C57BL/6 avbröts (Figur 2).



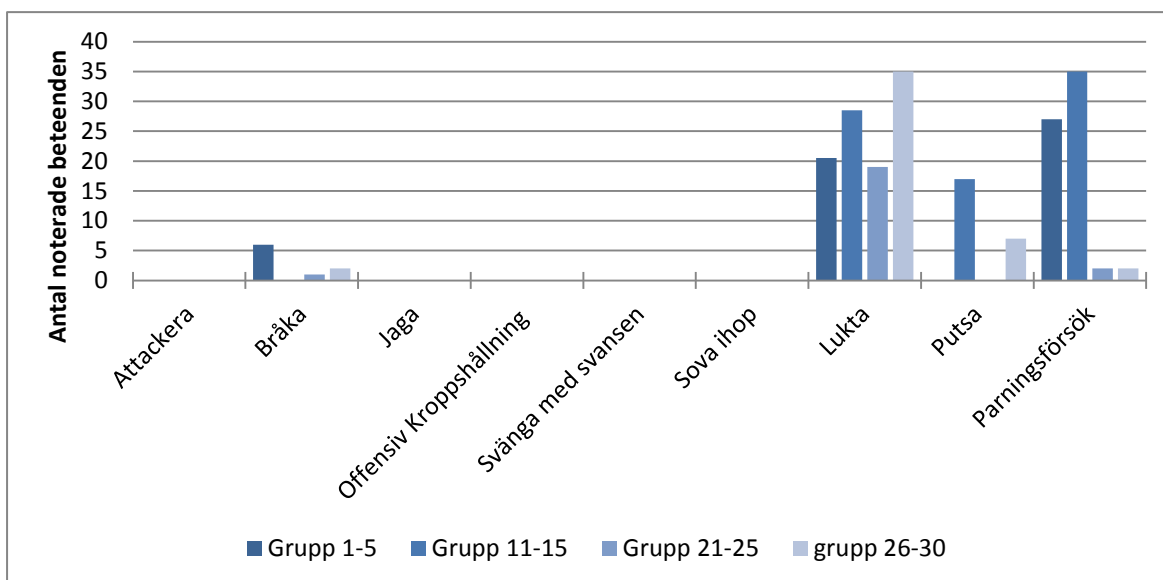
Figur 1. Antalet parer som avbröts respektive inte avbröts i hållning av en kastrerad mus med en icke kastrerad mus sett till könet på kastratet.



Figur 2. Antalet parer som avbröts respektive inte avbröts i hållning av en kastrerad mus med en icke kastrerad mus sett till stammen på den icke kastrerade musen.

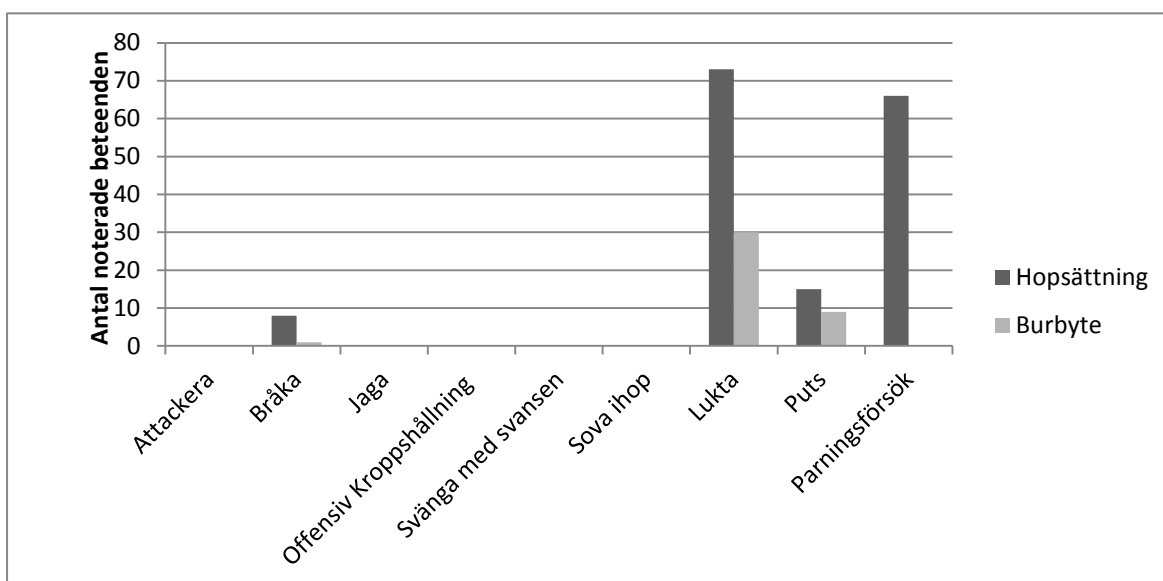
3.2 Beteendeobservationer

På grund av att alla par som innehöll en kastrerad hane, alltså par 6-10 och 16-20 avbröts och observationerna inte fullföljdes används dessa inte i resultatet av observationerna. Resultatet av observationerna visar därför en liten grad av eller inget aggressivt beteende (figur 3.) De beteenden som noterades vid ett tillfälle eller flera var bråka, lukta, puts och parningsförsök. Av alla noteringar utgör 4,1 % bråka, 51,6 % lukta, 14,2 % puts och 30,1 % parningsförsök.



Figur 3. Fördelningen av beteenden vid parhållning av icke kastrerade möss med kastrerade möss

Beteendet bråka utfördes inte av par 11-15 men inte heller i stor utsträckning av de andra paren. Beteendet lukta var det mest förekommande beteendet och utfördes av alla par där par 1-5 stod för 20,1 % av noteringarna, par 11-15 stod för 32,5 %, par 21-25 stod för 16,6 % och par 26-30 stod för 30,8 %. Att putsa sin burpartner var det endast par 11-15 och 26-30 som gjorde där par 11-15 stod för 77 % av noteringarna och par 26-30 stod för 23 % av noteringarna. Beteendet parningsförsök utfördes av alla par men i mycket större



Figur 4. Totala antal beteenden vid parhållning av icke kastrerad mus med kastrerad mus uppdelat på hopsättning och burbyte

utsträckning av par 1-5 och 11-15. Par 1-5 stod för 41 % av noteringarna för beteendet parningsförsök, par 11-15 stod för 53 %, par 21-25 och 26-30 stod för 3 % vardera.

Då paren sattes ihop förekom det mer bråk än vid burbytet. 89 % av de noterade tillfällena då bråk förekom var dessa vid hopsättning och 11 % av tillfällena var vid burbyte. Beteendet lukta utfördes också i större utsträckning vid hopsättning. 65 % av tillfällena beteendet lukta förekom var vid hopsättning och 35 % var vid burbyte. Putsbeteendet skilje sig inte så mycket mellan hopsättning och burbyte då 48 % av de noterade tillfällena var vid hopsättning och 52 % var vid burbyte. Markant skillnad fanns däremot hos beteendet parningsförsök då de noterade tillfällena förekom i 100 % vid hopsättning och 0 % vid burbyte.

4. Diskussion

4.1 Fortlöpande kontroll

Resultaten från vilka par som avbröts och vilka som inte gjorde det ger en tydlig indikation på att inhysa en kastrerad hane med en icke kastrerad hane inte är ett bra tillvägagångssätt för att eliminera förekomsten av aggressiva beteenden då 100 % av dessa par var tvungna att avbrytas. Detta resultat överensstämmer med de studier som har utvärderat aggression mellan icke kastrerade möss (Van Oortmerssen, 1971; Bisazza, 1981) och tyder på att parhållning med en icke kastrerad och en kastrerad hane inte minskar aggressiva beteenden. Dock, på grund av tidsbrist, hade de egenavlade mössen bara varit kastrerade i 2 veckor samtidigt som de inköpta mössen enbart varit kastrerade i 1 vecka. I ens studie av Arteaga-Silva *et al.* (2007) tar det 4 veckor innan alla sexuella beteenden försvinner från en kastrerad mus och lämpligen borde studier som vill utvärdera en kastrerad mus beteenden därför inte genomföras förrän tidigast 4 veckor efter kastration.

Antalet grupper som avbröts då kastratet var en hona var däremot så lågt som 10 % Huruvida detta är en förbättring från par med en hane och en hona vilka inte är kastrerade går inte att med säkerhet säga då vi inte använde kontrollgrupper i denna studie. Aggression mellan motsatta kön verkar dock inte vara ett större problem då de artiklar som avhandlar ämnet aggression mellan möss nästan uteslutande använder sig av hanmöss (Bisazza, 1981; Gray och Hurst 1994; Nevison *et al.* 1999; Fano *et al.*, 2001; Van Loo *et al.*, 2001; Van Loo *et al.*, 2002; Lofgren *et al.*, 2012). Det har även testats hos viltfångade möss i en studie av Gray *et al.* (2001). Etablerade par av han- och honmöss separerades och sedan introducerades möss av antingen samma eller motsatta könet för att se reaktionen på de etablerade mössen. I den studien såg man dels att honor i allmänhet utför färre aggressiva beteenden samt att båda könen utför mindre aggressiva beteenden mot det motsatta könet. Mest aggressiva beteenden kunde observeras mellan hanar. Med detta i åtanke är det därför logiskt att en hona och en hane skulle utföra få aggressiva beteenden. I studien av Gray *et al.* (2001) var även djuren vana vid sitt område och hade hunnit etablera sitt revir motsatt till vår studie.

I vår studie placerade vi alla djuren i nya rena burar där det inte hade etablerats några revir och djuren hade tidigare suttit i samkönade grupper så det fanns heller inte några etablerade grupper med dominanta honor eller hanar. Förutsättningarna för att få aggressiva beteenden ska utföras är därmed mycket liten och att tillskriva den låga förekomsten av dessa beteenden till faktumet att honorna var kastrerade är inte möjligt. Trots detta kan metoden att använda en kastrerad hona som sällskap vara befogat utifall man ur välfärdsynpunkt vill att hanen ska ha sällskap men samtidigt ur experimentell synpunkt inte vill att hanen ska para sig. Man följer då rekommendationer och lagar över hur möss ska hållas men kan samtidigt uppnå målet med sin forskning.

Sett till vilken stam de icke kastrerade mössen var fanns det endast små tendenser till att de transgener vi har använt skulle vara lämpligare då 45 % av de par som avbröts var transgener jämfört med 55 % hos C57BL/6. Dock var det ett av paren där den icke kastrerade var en C57BL/6 som inte startades på grund av överhängande risk av ihängande aggression och hade detta par startats hade den med största sannolikhet avbrutits. I en studie med stort urval hade detta inte påverkat resultatet men i denna studie hade detta kunnat öka andelen avbrutna par med en icke kastrerad C57BL/6 med några procentenheter. Att det finns beteendeskilnader mellan olika stammar av möss är väl dokumenterat av bland annat Van de weerd *et al.* (1994), Nevison *et al.* (1999) och Nicol *et al.* (2008). Därför skulle detta resultat kunna vara en indikation på att de transgener vi har använt är lämpligare att använda på grund av en lägre förekomst av aggression. Urvalet är dessvärre i denna studie tyvärr allt för otillräckligt för att dra slutsatsen att dessa transgener skulle vara lämpligare att använda för att minska aggressiva beteenden. Görs denna studie om med ett större urval och man får samma resultat kan detta vara en säkrare antydning till att våra transgener är lämpligare.

4.2 Beteendeobservationer

Resultaten från beteendeobservationerna gav inte någon indikation på hur aggressivitet eller andra beteenden utvecklades under de 15 minuter som följer direkt efter hopsättning eller burbyte. Därför presenteras resultaten enbart i hur många tillfällen varje beteende uppstod och inte i kombination med tidpunkt för beteendet. Även med resultatet presenterat på detta vis går det inte att upptäcka några skillnader mellan kön eller stammar när det kommer till aggressivitet. Detta beror på att beteendeobservationer från par med en kastrerad hane inte finns att tillgå på grund av att alla par avbröts innan studiens bestämda 15 minuter var över. De resultat som finns och påvisar aggressivitet är väldigt få då endast 4,1 % av de registrerade beteendena är bråk. Detta är positivt då det antyder att hanar och kastrerade honor inte bråkar förutom i vissa undantagsfall. Dock som tidigare nämnt bråkar honor och hanar lite även då de inte är kastrerade. Utöver att man kan undersöka förekomsten av aggressiva och hotfulla beteenden kan man även granska de positiva beteendena för att utvärdera aggression. I en studie av Maraschi *et al.* (2003) visades att grupper med en hög förekomst av aggressiva beteenden hade även låg nivå av socialt positiva beteenden så som puts och att sitta bredvid varandra med fysisk kontakt. Man skulle därför kunna anta att de par i vår studie som utför goda sociala beteenden har även en lägre förekomst av aggressiva beteenden.

Ser man däremot till de andra beteendena och även mellan hopsättning och burbyte finns det vissa skillnader som går att utläsa. Några av beteendena utförs enbart av vissa par vilket kan tyda på att det är avgörande vilka stammar som är i paren. De beteenden som skiljer sig nämnvärt mellan olika stammar är lukta, puts och parningsförsök. Det sista beteendet med noteringar som är bråka har också vissa skillnader dock är de så få noteringar att det inte går att tillskriva skillnaderna till någon faktor. I fallet av beteendet lukta var det tydliga skillnader men det är svårt att säga att de skulle kunna tillskrivas till vilka stammar det var. Detta på grund av att det dels var ett svårt beteende att urskilja under observationerna då det mössen gjorde mest var explorativt beteende och eftersom detta innebär att lukta runt i buren är det svårt att skilja på om de faktiskt luktar på den andra musen eller bara sveper förbi den luktandes när den undersöker buren. Det är också svårt att se ett samband i lukta då de två kombinationerna som skiljer sig lite från varandra inte har någon gemensam faktor då både den kastrerade musen och den icke kastrerade musen är av olika stammar i dessa kombinationer. Samma problem finns med beteendet puts då de är samma kombinationer som utfört detta beteende och därmed finns ingen gemensam typ av stam.

Parningsförsök utfördes i mycket större utsträckning av par 1-5 och 11-15. Vad som skiljer dessa två kombinationer mot de andra två är stammen på den icke kastrerade hanen. I par 1-5 och 11-15 är det en transgen hane och i par 21-30 är det en C57BL/6 hane. Den höga förekomsten av parningsförsök skulle därmed kunna tillskrivas faktumet att hanen är transgen. Den specifika egenskapen att transgena möss är mer motiverade till att para sig har jag inte kunnat hitta bevis på från andra studier men som tidigare nämnt skiljer sig beteenden ofta mellan olika stammar av möss och därmed skulle den transgena stam som användes i denna studie kunna vara mer motiverade till parning men mer forskning behövs för att fastställa detta.

Skillnader kan påträffas också om man tittar på skillnaderna mellan första tillfället mössen möts, alltså vid hopsättning, och då burbyten gjordes på mössen. Det enda beteendet som var likvärdigt vid hopsättning och burbyte var puts. I övrigt så skiljde sig de andra beteendena från hopsättning och burbyte. 89 % av noteringarna av bråk utfördes vid hopsättning vilket är en stor skillnad men precis som när man granskar skillnader mellan stammar så är de totala noteringarna för bråk väldigt få och det kan därmed vara svårt att hitta ett signifikant samband. För beteendet lukta var skillnaden 65 % vid hopsättning och 35 % vid burbyte och för beteendet parningsförsök så utfördes 100 % av tillfällena vid hopsättning.

4.3 Förbättringar i studien

På grund av begränsningen i tid har denna studie inte kunnat göras i den omfattningen att resultaten blir starkt tillförlitliga. Andelen djur som har använts samt antalet observationstillfällen är för få för att kunna dra starka slutsatser. Denna studie utformades därför som en pilotstudie för att på bästa sätt vid ett senare tillfälle, då man gör en större studie, utforma den större studien på ett bättre sätt. Följande rubrik är därför tillägnad att diskutera eventuella felkällor och förbättringar i material och metod.

Djuren fick innan starten på studien sitta i stabila grupper för att sedan sättas ihop i de par som de skulle studeras i. När det redan i början var tydligt att vissa par, speciellt de med två hanar, inte fungerade och var tvungna att brytas återanvändes de icke kastrerade hanarna och sattes ihop med kastrerade honor. De fick ingen ny aklimatiseringsperiod utan sattes ihop med den nya musen på direkten. Tanken med detta var att återanvända djuren för att följa de tre R:en och då utnyttja de djur som ingick i studien så långt de gick. Dock är det högst troligt att detta kan ha påverkat djurens beteende och därmed även studien. Det har visats att efter aggressiva interaktioner har möss en förhöjd nivå av testosteron (Klomberg *et al.*, 2002) och att förhöjda nivåer av testosteron leder till flera aggressiva interaktioner (Van Oortmerssen *et al.*, 1987). För att få givande resultat rekommenderar jag därför att om man vill återanvända djuren måste de få en aklimatiseringsperiod för att sedan kunna inhysas igen med en ny mus.

Från början var tanken att endast en observatör skulle användas i studien men på grund av tidsbrist vid observationstillfällena var detta inte genomförbart. Därför fick vi istället vara två stycken som utförde observationerna samtidigt för att de skulle hinnas med. Att ha olika observatörer kan vara ett problem på grund av att olika observatörer ser på beteenden olika. Trots att man standardiserar en studie så mycket som möjligt kan detta ändå vara ett problem som leder till olika resultat (Lewejohann *et al.*, 2006). I denna studie tror jag däremot att olika observatörer inte har varit ett större problem eftersom det uppvisades väldigt få beteenden och utvecklingen av studien har lett till att observationsresultaten inte presenterar förekomsten av aggressivitet lika bra som den fortlöpande kontrollen. Dock är så få observatörer som möjligt alltid önskvärt.

Även om antalet observatörer inte påverkade resultatet i denna studie så kan däremot mängden människor som vistades i djurrummet vid ett av observationstillfällena ha gjort det. Under en längre period var det fyra personer nära inpå den bur som observerades inklusive att det vid ett tillfälle tillkom två personer som hade andra ärenden i rummet. Sådan aktivitet tror jag har möjlighet att påverka mössens sinnestillstånd och stressnivå vilket skulle kunna leda till aggressiv aktivitet som inte hade förekommit om en eller högst två observatörer hade befunnit sig i rummet. Enligt ny forskning kan även omständigheten huruvida observatören eller djurteknikern är en man stressa upp mössen (Sorge *et al.*, 2014). Det var endast en av observatörerna som var man men vill man ha så få utomstående faktorer som möjligt som påverkar studien hade det optimala varit att båda observatörerna var kvinnor om det är så att de personerna som arbetar med djuren i normala fall är kvinnor för att efterlikna verkligheten så mycket som möjligt.

Förbättringar med avseende på observatörer är alltså att i så stor utsträckning försöka använda sig av en observatör så beteenden tolkas på likvärdigt vis. Går detta inte att lösa får man naturligtvis fylla på med ytterligare observatörer dock ska endast nödvändig mängd människor delta i studien då ett stort antal människor och mycket aktivitet möjligtvis kan påverka resultatet.

Resultaten från beteendeobservationerna blev tyvärr inte så användbara i denna studie eftersom nästan alla par som visade aggressivitet gjorde detta i så stor grad att de var tvungna att avbrytas och därmed exkluderades. Därför blir det även svårt att bedöma om rätt observationsmetod har använts samt om etogramet var tillfredställande. Jag tycker emellertid att observationsmetoden var lämplig då man fick en ganska så god representativ bild i resultatet över hur djuren betedde sig i verkligheten. Det är naturligtvis många beteenden som inte har noterats så som explorativt beteende, som till synes utfördes i störst utsträckning, men de beteenden som var viktiga för denna studie så som aggressiva beteenden och goda sociala beteenden fick vi en representativ bild av. Jag tror därför att om man ämnar utföra denna studie igen behövs inte observationsmetoden ändras och inte etogramet heller. Har man möjlighet att utföra observationer utspritt över hela dygnet och veckan är detta klart lämpligare än att bara observera vid burbyte och hopsättning för att få en klarare bild av hur mössen beter sig. Detta om man intresserad av aggressivitet i allmänhet. Är man intresserad av aggressivitet vid just burbyte och hopsättning ska observationerna naturligtvis utföras vid dessa tillfällen. Det kan också vara lämpligt att observera under en lite längre period än 15 minuter om man ska observera vid burbyte och hopsättning då vi fick uppfattningen att vissa av mössen efter burbyte och hopsättning mest ägnade sig åt explorativt beteende och inte aggressivt beteende som Gray och Hurst (1994) fann i sin studie. Samtidigt var det precis som för Gray och Hurst (1994) andra möss som ägnade sig åt aggressiva beteenden under de första 15 minutrarna och till och med så snabbt att studierna inte hann slutföras. Förslagsvis skulle man därför i nya studier kunna kombinera kortare observationer för de djur som i början ägnar sig åt aggressiva beteenden med längre observationer för att fånga upp beteenden hos möss som i början mest ägnar sig åt explorativa beteenden. Däremot kan man ställa sig frågan om det inte är lämpligare att helt enkelt undersöka vilka par som måste avbrytas och inte då det i alla fall från denna studie verkar som att antingen som bråkas mössen mycket eller ingenting.

5. Slutsats

Syftet med denna studie var att undersöka vilken grad av aggressiva beteenden som förekommer i parhållningar med en icke kastrerad hanmus och en kastrerad han- eller honmus. Det vi har kommit fram till är att det är väldigt hög grad av aggressiva beteenden mellan en icke kastrerad hanmus och en kastrerad hanmus. Så hög grad att de faktiskt

måste separeras från varandra. Mellan en icke kastrerad hanmus och en kastrerad honmus är det tvärtemot och det förekommer nästan ingen aggression alls. Det betyder att en hållning med en icke kastrerad hanmus och en kastrerad hanmus inte är att rekommendera som lösning på aggression mellan hanmöss om mössen inhyses i likhet med denna studie. Att använda en kastrerad honmus som burpartner till en icke kastrerad hane är möjligt och kan vara ett bättre alternativ än att hanen får sitta själv. Detta ska däremot inte ses som en universal lösning på problemet eftersom antalet möss som måste användas i en studie fördubblas för att kunna tillgodose mössen social behov. Detta bestrider målet med att reducera antalet djur som används inom forskning. Att få bukt med aggression mellan hanmöss kräver mer kunskap i hur man kan arbeta med burstorlek, berikning och andra aspekter i hållningen. Det är också nödvändigt att fortsätta forska på hur separata stammar skiljer sig och vilka stammar som är lämpliga för vad.

6. Populärvetenskaplig sammanfattning

Möss är ett av många försöksdjur som människan använder och även ett av de vanligaste. Förekommer det välfärdsproblem hos detta djur kommer därför detta påverka väldigt många individer. Ett vanligt problem är aggression mellan hanmöss vilket leder till att hanarna potentiellt skadar eller dödar varandra. Detta kan också leda till psykologiskt lidande i form av stress. På grund av sin naturliga sociala struktur är det inte tillåtet enligt svenska föreskrifter att hålla möss individuellt och problemet kan således inte lösas på detta sätt.

Forskning har kunnat visa att möss väljer gruppställning framför individuell hållning. Stress hos möss kan även öka vid individuell hållning enligt vissa studier men kan också vara mindre än vid gruppställning enligt vissa studier. För att komma till rätta med aggression mellan hanmöss har många studier utförts för att utvärdera effekten av ändringar i miljö. Ändringar som till exempel bomaterial, gruppstorlekar, burstorlekar och skötselrutiner. Trots att många av de åtgärder man har funnit reducerar aggression har applicerats kan aggression fortfarande vara ett problem. På grund av detta har vi utfört en studie där en alternativ lösning undersöktes. Denna alternativa lösning var att inhysa en icke kastrerad mus med en kastrerad mus för att på så sätt tillgodose mössens sociala behov men samtidigt att ha en mus att tillgå som har normala fysiologiska funktioner.

I studien användes flera olika typer av möss och med olika kön. Huruvida mössen utförde aggressiva beteenden undersöktes dels med observationer av mössens beteenden och kontroller av mössens hälsotillstånd.

Det vi fann var att hållning med icke kastrerade hanar och kastrerade hanar inte hade en påverkan på mängden aggressiva beteenden och alla grupper med denna arrangemang var tvungna att avbrytas för att inte riskera djurens välfärd. Hållning med icke kastrerade hanar och kastrerade honor var däremot mer framgångsrikt och endast 10 % av grupperna var tvungna att avbrytas. Denna låga förekomst av aggression behöver inte bero på kastrationen då aggression mellan hanar och honor som inte är kastrerade är tämligen ovanligt. Trots detta ger det möjlighet till en alternativ hållning eftersom de kan hållas utan att de kan föröka sig och på så sätt får den icke kastrerade hanen sällskap men kan fortfarande användas i medicinska studier.

Detta är en fungerande hållning som tillgodoser mössen naturliga social struktur och ger forskare möjlighet att forska på fysiologiskt opåverkade djur. Jag tror dock att lösningen endast ska användas i undantagsfall då ett av de största målen inom försöksdjursvärlden är att reducera antalet djur som används. Med denna metod skulle antalet djur som går att använda i en studie vara hälften av hur många som faktiskt används. För att få bukt på

problemet med aggression mellan hanmöss krävs alltså forskning på mer hållbara lösningar som uppfyller djuren sociala behov samtidigt som övriga frågor så som antalet använda djur även förbättras.

7. Tack

Tack till min handledare Elin Weber och min kontaktperson på AstraZeneca, Birgit Ewaldsson, som varit ansvarig för djuren och ansvarat för många delar så som inköp, kastrering mm. och tack även för hjälpen som observatör.

8. Referenser

- Artega-Silva, M., Rodríguez-Dorantes, M., Baig, S. & Morales-Montor, J. 2007. Effects of castration and hormone replacement on male sexual behavior and pattern of expression in the brain of sex-steroid receptors in BALB/c AnN mice. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 147, 607-615.
- Bartolomucci, A., Palanza, P., Sacerdote, P., Ceresini, G., Chirieleison, A., Panerai, A.E. & Parmigiani, S. 2002. Individual housing induces altered immunoendocrine responses to psychological stress in male mice. *Psychoneuroendocrinology*. 28, 540-558.
- Baumans, V. 2010. The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. Sid 276-310. Chichester, John Wiley & Sons Ltd.
- Bisazza, A. 1981. Social organization and territorial behaviour in three strains of mice. *Bolletino di zoologia*. 48, 157-167.
- Fano, E., Sánchez-Martin, J.R., Arregi, A., Castro, B., Alonso, A., Brain, P. & Azpíroz, A. 2001. Social stress paradigms in male mice: Variations in behavior, stress and immunology. *Physiology & Behavior*, 73, 165-173,
- Goldsmith, J.F., Brain, P.F. & Benton, D. 1978. Effects of the duration of Individual or Group Housing on Behavioural and Adrenocortical Reactivity in Male Mice. *Physiology & Behavior*. 21, 757-760.
- Gray, S. & Hurst, J.L. 1994. The effects of cage cleaning on aggression within groups of male laboratory mice. *Animal Behaviour*. 49, 821-826.
- Gray, J.S., Jensen, S.P. & Hurst, J.L. 2001. Effects of resource distribution on activity and territory defence in house mice, *Mus domesticus*. *Animal Behaviour*. 63, 531-539.
- Hunt, C. & Hambly, C. 2006. Faecal corticosterone concentrations indicate that separately housed male mice are not more stressed than group housed males. *Physiology & Behaviour*. 87, 519-526.
- Karolewicz, B. & Paul, I.A. 2001. Group housing of mice increases immobility and antidepressant sensitivity in the forced swim and tail suspension tests. *European Journal of Pharmacology*. 415, 197-201.
- Klomberg, K.F., Garland, T., Swallow, J.G. & Carter, P.A. 2002. Dominance, plasma testosterone levels, and testis size in house mice artificially selected for high activity levels. *Physiology & Behavior*. 77, 27-38.
- Latham, N. & Mason, G. 2004. From house mouse to mouse house: the behavioral biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. *Applied Animal Behaviour Science*. 86, 261-289.
- Lewejohann, L., Reinhard, C., Schrewe, A., Brandewiede, J., Haemisch, A., Görtz, N., Schachner, M. & Sachser, N. 2006. Environmental bias? Effects of housing conditions,

laboratory environment and experimenter on behavioral tests. *Genes, Brain and Behaviour*. 5, 64-72

Lofgren, J.L.S., Erdman, S.E., Hewes, C., Wong, C., King, R., Chavarria, T.E., Discua, A.R., Fox, J.G. & Maurer, K.J. 2012. Castration Eliminates Conspecific Aggression in Group-Housed CD1 Male Surveillance Mice (*Mus musculus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 51, 594-599.

Marashi, V., Barnekow, A., Ossendorf, E. & Sachser, N. 2003. Effects of different forms of environmental enrichment on behavioral, endocrinological and immunological parameters in male mice. *Hormone and Behaviour*, 43, 281-292.

Nevison, C.M., Hurst, J.L. & Barnard, C.J. 1999. Strain-specific effect of cage enrichment in male laboratory mice. *Animal Welfare*. 8, 361-379

Nicol, C.J., Brocklebank, S. Mendl, M. & Sherwin, C.M. 2008. A targeted approach to developing environmental enrichment for two strains of laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science*. 110, 341-353.

Rettich, A., Käsermann, H.P., Pelczar, P., Bürki, K. & Arras, M. 2006. The Physiological and Behavioral Impact of Sensory Contact Among Unfamiliar Adult Mice in the Laboratory. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 9, 277-288.

Smith, A.L., Mabus, S.L., Muir, C. & Woo, Y. 2005. Effects of Housing Density and Cage Floor Space on Three Strains of Young Adult Inbred Mice. *Comparative Medicine*. 55, 368-376

Sorge, R.E., Martin, J.L., Isbester, K.A., Sotocinal, S.G., Rosen, S., Tuttle, A.H., Wieskopf, J.S., Acland, E.L., Dokova, A., Kadoura, B., Leger, P., Mapplebeck, J.C.S., McPhail, M., Delany, A., Wigerblad, G., Schumann, A.P., Quinn, T., Frasnelli, J., Svensson, C.I., Sternberg, W.F. & Mogil, J.S. 2014. Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nature Methods*.

Statens jordbruksverks föreskrifter och allmänna råd (SJVFS 2012:26) om försöksdjur, saknr L 150

Van de weerd, H.A., Baumans, V., Koolhaas, J.M. & Vanzutphen, L.F.M. 1994. Strain-specific behavioral-response to environmental enrichment in the mouse. *Journal of Experimental Animal Science*. 36, 117-127.

Van Loo, P.L.P., Kruitwagen, C.L.J.J., Van Zutphen, L.F.M., Koolhaas, J.M. & Baumans, V. 2000. Modulation of aggression in male mice. *Animal Welfare*. 9, 281-295.

Van Loo, P.L.P., de Groot, A.C. Van Zutphen, L.F.M & Baumans, V. 2001. Do male mice prefer or avoid each other's company? Influence of hierarchy, kinship and familiarity. *Journal of Applied Animal Welfare Science*. 4. 91-103.

Van Loo, P.L.P., Kruitwagen, C.L.J.J., Koolhaas, J.M., Van de Weerd, H.A., Van Zutphen, L.F.M. & Baumans, V. 2002. Influence of cage enrichment on aggressive behaviour and physiological parameters in male mice. *Applied Animal Behaviour Science*. 76, 65-81.

Van Loo, P.L.P., Van de Weerd, H.A., Van Zutphen, L.F.M & Baumans, V. 2004. Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory mice. *Laboratory Animals*. 38, 178-188.

Van Oortmerssen, G.A. 1971. Biological Significance, Genetics and Evolutionary Origin of Variability in Behaviour within and between Inbred Strains of mice (*Mus musculus*): A Behaviour Genetic Study. *Behaviour*. 38, 1-92.

Van Oortmerssen, G.A., Dijk, D.J. & Schuurman, T. 1987. Studies in Wild House Mice II. Testosterone and Aggression. *Hormones and Behavior*. 21, 139-152.

Bilaga 1.

Etogram

Aggressiva beteenden

- Attackera: Snabbt närmande av en mus mot den andra som följs av bitande på bakdel på den andra musen.
- Jaga: En mus jagar den andra musen springandes.

Hotfulla beteenden

- Offensiv kroppshållning: Står på sidan eller på bakbenen med huvudet riktat mot den andra musen.
- Svänga med svansen: Snabb svängning med svansen av en mus.

Goda sociala beteenden

- Sova ihop: Mössen ligger i nära kontakt med varandra.
- Lukta: En mus luktar på den andra musen utan följd av aggressivt beteende.
- Puts: En mus putsar den andra musen.

Övriga beteenden

- Parningsförsök: Hanmus jagar och försöker bestiga honmus.

Vid **Institutionen för husdjurens miljö och hälsa** finns tre publikationsserier:

- * **Avhandlingar:** Här publiceras masters- och licentiatavhandlingar
- * **Rapporter:** Här publiceras olika typer av vetenskapliga rapporter från institutionen.
- * **Studentarbeten:** Här publiceras olika typer av studentarbeten, bl.a. examensarbeten, vanligtvis omfattande 7,5-30 hp. Studentarbeten ingår som en obligatorisk del i olika program och syftar till att under handledning ge den studerande träning i att självständigt och på ett vetenskapligt sätt lösa en uppgift. Arbetenas innehåll, resultat och slutsatser bör således bedömas mot denna bakgrund.

Vill du veta mer om institutionens publikationer kan du hitta det här:
www.slu.se/husdjurmiljohalsa

DISTRIBUTION:

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap
Institutionen för husdjurens miljö och hälsa
Box 234
532 23 Skara
Tel 0511-67000
E-post: hmh@slu.se
Hemsida:
www.slu.se/husdjurmiljohalsa

*Swedish University of Agricultural Sciences
Faculty of Veterinary Medicine and Animal
Science
Department of Animal Environment and Health
P.O.B. 234
SE-532 23 Skara, Sweden
Phone: +46 (0)511 67000
E-mail: hmh@slu.se
Homepage:
www.slu.se/animalenvironmenthealth*
